

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Parasitologia



Dissertação

**Efeito do probiótico *Saccharomyces boulardii*
sobre a transmissão vertical em camundongos
com toxocaríase**

Luís Augusto Xavier Cruz

Pelotas, 2012

Luís Augusto Xavier Cruz

Efeito do probiótico *Saccharomyces boulardii* sobre a transmissão vertical em camundongos com toxocaríase

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área do conhecimento: Parasitologia).

Orientador: Carlos James Scaini

Co-Orientador: Fabricio Rochedo Conceição

Pelotas, 2012

Banca examinadora:

Prof. Dr. Carlos James Scaini

Profa. Dra. Lúlie Rosane Odeth Susin

Profa. Dra. Maria Elisabeth Aires Berne

Prof. Dr. Marcos Marreiro Villela

Dedico à memória de meu
pai Aluízio Duarte Cruz cujos
ensinamentos tem me inspirado
a ser o melhor que posso.

Agradecimentos

Ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia – Universidade Federal de Pelotas /UFPEL.

À Universidade Federal do Rio Grande, especialmente ao Laboratório de Parasitologia/FAMED, ao Laboratório de Micologia/FAMED, ao Biotério do Laboratório de Morfologia Experimental/FAMED e ao Biotério Central por possibilitarem a execução do projeto.

Ao Laboratório de Imunologia Aplicada /CDTEC-Biotecnologia/UFPEL.

Ao Laboratório de Ensaio de Alimentos /Faculdade de Nutrição/UFPEL.

Aos colegas do Laboratório de Histologia/DM/IB/UFPEL pela compreensão nos momentos em que precisei me afastar do laboratório.

Aos Prof.(s) Carlos James Scaini e Fabricio Rochedo Conceição.

A Prof.(a) Ana Azambuja pela ajuda com análise estatística.

Aos colegas Luciana Avila, Carolina Hirsch, Lis Lehmann, Lourdes Martins, Gabriel Klafke, Ana Carolina, Paula Telmo, Paula Dutra, Paula Santos, Carolina Lorenzi, Naiana Martins, Taís Mata, Nitza Souto, Juliana Fenalti, Rodrigo França, Regina Castelli, Rosimeri Rossales e Joana Rodrigues.

Agradeço a todos que colaboraram para a realização deste projeto e participaram desta jornada, não só compartilhando a bancada de trabalho, mas participando das dificuldades, na busca das soluções e de conhecimento.

Aos familiares e amigos pela paciência e incentivo.

Tu me dizes, eu esqueço.
Tu me ensinas, eu lembro.
Tu me envolves, eu aprendo.
(Benjamin Franklin)

Resumo

CRUZ, Luís Augusto Xavier. **Efeito do probiótico *Saccharomyces boulardii* sobre a transmissão vertical em camundongos com toxocaríase**. 2012. 55f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Parasitologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A toxocaríase humana é uma zoonose parasitária com distribuição mundial, apresenta prevalência subestimada e é caracterizada pela complexidade na realização do diagnóstico, tratamento e controle. Estes aspectos justificam a busca por novas alternativas auxiliares no controle desta helmintíase tecidual. Neste sentido, já foi observado, em modelos experimentais, o potencial de agentes probióticos para a redução da intensidade da infecção por larvas de *Toxocara canis*. Desse modo, torna-se relevante estudar o efeito dos probióticos também na transmissão vertical, pois este tipo transmissão é fundamental nos hospedeiros definitivos e já foi demonstrada nos seres humanos. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do probiótico *Saccharomyces boulardii* sobre a transmissão vertical de larvas de *Toxocara canis* em camundongos, fêmeas, inoculadas no terço final da gestação. Dois grupos de oito camundongos Swiss, fêmeas, foram formados. As fêmeas do Grupo 1 (G1) foram alimentadas com ração suplementada com probiótico *S. boulardii* e as fêmeas do G2 (controle) foram alimentadas com ração sem probiótico. O fornecimento de ração para os dois grupos iniciou 15 dias antes do acasalamento, continuou durante toda gestação e foi mantido até o 21º dia de lactação. A infecção experimental das fêmeas ocorreu no 14º dia de gestação, quando foram inoculadas, pela via intragástrica, 300 ovos embrionados de *T. canis*. As fêmeas lactantes e os lactentes foram eutanasiados no 21º dia de lactação. Após a necropsia, órgãos e musculatura estriada esquelética (carcaça) foram submetidos à digestão tecidual com pepsina 1% e ácido clorídrico 1%. A seguir foi realizada a pesquisa e quantificação das larvas no material. A frequência da transmissão vertical para a prole no G1 (probiótico) foi 21,6% menor do que no G2 (controle). Além disso, o número de larvas de *T. canis* recuperadas, nos lactentes das fêmeas do G1 (probiótico) foi 42,1%, significativamente menor ($p=0,026$) do que o número de larvas recuperadas na prole das fêmeas do G2 (controle). Conclui-se que houve efeito benéfico do probiótico *S. boulardii* nas condições estudadas, com a redução na taxa de transmissão vertical de *T. canis*, confirmando o seu potencial em contribuir para o controle da toxocaríase visceral.

Palavras-chave: *Toxocara canis*. Transmissão vertical. Controle. Helmintose.

Abstract

CRUZ, Luís Augusto Xavier. **Efeito do probiótico *Saccharomyces boulardii* sobre a transmissão vertical em camundongos com toxocaríase**. 2012. 55f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Parasitologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Human toxocariasis is a worldwide parasitic zoonosis, with underestimated prevalence and characterized by complex diagnosis, treatment, and control. These aspects justify the search for new supportive alternatives to control this tissue helminthiasis. In this sense, experimental models have shown the potential of probiotic agents in reducing the intensity of infections with *Toxocara canis* larvae. Therefore, studying the effect of probiotics in vertical transmission is also relevant, as this type of transmission is essential in definitive hosts and has been shown in humans. This study aims at assessing the effect of *Saccharomyces boulardii* probiotic on the vertical transmission of *Toxocara canis* larvae in female mice inoculated during the last third of pregnancy. Two groups of eight female Swiss mice were formed. Females in Group 1 (G1) were fed with ration supplemented with *S. boulardii* probiotic, and females in G2 (control) were fed with ration without probiotic. The supply of ration for both groups started 15 days before mating, continued during pregnancy and was maintained until the 21st day of lactation. Experimental infection of females was given on day 14 of pregnancy, when 300 *T. canis* eggs were intragastrically inoculated. Lactating females and infants were euthanized on the 21st day of lactation. After necropsy, organs and skeletal striated muscle (carcass) were submitted to tissue digestion with 1% pepsin and 1% hydrochloric acid. Next, detection and quantification of larvae were performed on the material. Frequency of vertical transmission to the G1 offspring (probiotic) was 21.6% lower than in the G2 (control). In addition, the number of *T. canis* larvae recovered from G1 female mice offspring (probiotic) was 42.1%, which is significantly lower ($p=.026$) than the number of larvae recovered from G2 female offspring (control). It can be concluded that there was a beneficial effect of *S. boulardii* on the studied conditions, resulting in a reduction in the rate of vertical transmission of *T. canis* and confirming its potential in contributing to the control of visceral toxocariasis.

Keywords: *Toxocara canis*. Vertical transmission. Control. Helminthiasis.

Lista de Figuras

Figura 1	A) Corte histológico de encéfalo de camundongo, as setas indicam três segmentos transversais da larva de <i>Toxocara canis</i> em posição serpentiforme (aumento 400x); B) Larva de <i>Toxocara canis</i> íntegra obtida de ovo embrionado. A linha indica o plano de corte para comparar com o corte transversal obtido na técnica histológica (aumento 100x). Coloração Hematoxolína-Eosina, fixador formalina 10%, inclusão em parafina, espessura de corte 7µm. Fotos não publicadas, de autoria de Cruz, L.A.X. (2012).	18
Figura 2	Efeito do probiótico <i>Saccharomyces boulardii</i> em camundongos, fêmeas, infectadas no terço final de gestação (A) Diferença entre o número de larvas transmitidas; (B) Diferença entre o total de larvas recuperadas no G1 e G2.....	32

Lista de Tabelas

Tabela 1	Redução na frequência da transmissão vertical de <i>Toxocara canis</i> em camundongos infectados no terço final da gestação, alimentados com ração contendo o probiótico <i>Saccharomyces boulardii</i> (G1) e sem o probiótico (G2).	31
Tabela 2	Frequência para larvas de <i>Toxocara canis</i> em lactentes de camundongos, fêmeas, infectadas experimentalmente no terço final da gestação.	33
Tabela 3	Distribuição de larvas de <i>Toxocara canis</i> em órgãos e na musculatura estriada esquelética de camundongos gerados e amamentados por fêmeas infectadas no terço final da gestação, alimentadas com ração com probiótico (G1 - <i>Saccharomyces boulardii</i>) e sem probiótico (G2 – controle).	34

Lista de abreviaturas e siglas

χ^2	Qui-quadrado
®	Marca registrada comercial
μm	Micrômetro
CARC	Carcaça ou musculatura estriada esquelética
CDTEC	Centro de Desenvolvimento Tecnológico
CEUA	Comissão de Ética em Uso Animal
CME	Continuing Medical Education
CONCEA	Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal
COR.	Coração
DM	Departamento de morfologia
DP	Desvio Padrão
ELISA	Ensaio imunoenzimático
ENC	Encéfalo
F	Fígado
FAMED	Faculdade de Medicina
FURG	Universidade Federal de Rio Grande
G1	Grupo 1
G2	Grupo 2
GALT	<i>Gut-associated lymphoid tissue</i>
GL.MAM	Glândula mamária
GO	Globo ocular
IB	Instituto de biologia
IgA	Imunoglobulina A
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
LMO	Larva <i>migrans</i> ocular
LMV	Larva <i>migrans</i> visceral
Nº	Número
PL	Pulmão
R	Rim
S.A.	South Africa
SBCAL	Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFPEL	Universidade Federal de Pelotas

Sumário

1	Introdução	14
2	Objetivos	16
2.1	Objetivo Geral	16
2.2	Objetivos Específicos	16
3	Revisão de literatura	17
3.1	<i>Toxocara canis</i> – Toxocaríase Humana	17
3.2	Modos de infecção	19
3.2.1	Transmissão vertical	20
3.2.1.1	Transmissão vertical em hospedeiros definitivos	20
3.2.1.2	Transmissão vertical em camundongos (modelos experimentais)	21
3.2.1.3	Estudos da transmissão vertical em seres humanos	23
3.3	Dificuldade do controle da toxocaríase humana	23
3.4	Probiótico – <i>Saccharomyces boulardii</i>	24
4	Metodologia	27
4.1	Camundongos	27
4.2	Probiótico	27
4.3	Suplementação da ração com probiótico <i>Saccharomyces boulardii</i>	27
4.4	Delineamento Experimental	28
4.4.1	Grupos	28
4.4.2	Acasalamento	28
4.4.3	Infecção experimental e eutanásia dos camundongos	28
4.4.4	Pesquisa de larvas de <i>Toxocara canis</i> nos tecidos	29
4.4.5	Critérios de controle do experimento	29
4.5	Aspectos éticos	29
4.6	Análise estatística	30
5	Resultados	31

6	Discussão	35
7	Conclusões	39
	Referências	40
	Apêndices	50

1 INTRODUÇÃO

A toxocaríase humana é uma zoonose parasitária de distribuição mundial, que apresenta prevalência e impacto na saúde pública subestimados, devido a dificuldade em diagnosticar as diferentes formas clínicas desencadeadas (SMITH *et al.*, 2009). Embora esta parasitose seja mais prevalente em países em desenvolvimento, é considerada a helmintíase mais prevalente em países industrializados (MAGNAVAL *et al.*, 2001; HOTEZ, 2009). No Brasil, a partir da década de 1990, foram publicados vários estudos epidemiológicos sobre a toxocaríase humana, sendo registradas taxas de soroprevalência de 3,7% a 40% (CHIEFFI *et al.*, 2009).

Esta parasitose é caracterizada pela complexidade na realização do diagnóstico, tratamento e controle. O principal agente etiológico é o nematoide *Toxocara canis* (DESPOMMIER, 2003), geo-helminto de ciclo biológico complexo, que envolve diferentes formas de transmissão, tanto nos hospedeiros definitivos (cães) (STOYE, 1976), como nos hospedeiros paratênicos (roedores, aves, suínos, bovinos, ovinos) (NAGAKURA *et al.*, 1989; STÜRCHLER; WEISS; GASSNER, 1990; SALEM; SCHANTZ, 1992; HOFFMEISTER *et al.*, 2007; CHOI *et al.*, 2008) e nos hospedeiros acidentais (seres humanos) (SCHANTZ; GLICKMAN, 1978; MAFFRAND *et al.*, 2006).

O tratamento baseia-se na administração de anti-helmínticos (exceto para a forma ocular) e de anti-inflamatórios, anti-histamínicos e broncodilatadores. Os anti-helmínticos, tiabendazol, albendazol, mebendazol e ivermectina, são os mesmos empregados no tratamento das helmintíases intestinais, causadas por formas adultas de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Necator americanus*, *Ancylostoma duodenale*, entre outros (STÜRCHLER *et al.*, 1989; GLICKMAN; MAGNAVAL, 1993; MAGNAVAL, 1995; CAUMES, 2003; LESCANO *et al.*, 2005). Entretanto, salienta-se que a toxocaríase humana é uma parasitose tecidual causada por formas larvais de helmintos, não próprios dos seres humanos (BEAVER, 1969), em consequência, estes fármacos apresentam eficácia apenas moderada contra as larvas encapsuladas nos tecidos, resultando na resolução clínica de 47% a 70% dos casos (MAGNAVAL *et al.*, 2001).

A dificuldade na realização do tratamento e prevenção da toxocaríase humana sustenta a busca por novas estratégias de controle desta zoonose parasitária. Dentre as possíveis alternativas, encontra-se o emprego de agentes probióticos, os quais vêm demonstrando potencial como auxiliares no controle da toxocaríase em modelos experimentais (camundongos), ao promover redução na intensidade de infecção por larvas de *T. canis*, tanto na toxocaríase aguda como na crônica (BASUALDO *et al.*, 2007; CHIODO, *et al.*, 2010; AVILA, 2010).

Considerando a importância da transmissão vertical por *T. canis* em modelos experimentais (OSHIMA, 1961; LEE; MIN, 1974; AKAO; OHTA, 2007), nos hospedeiros definitivos (STOYE, 1976; BURKE; ROBERSON, 1985) e pela comprovação da infecção congênita na espécie humana (MAFFRAND *et al.*, 2006), torna-se importante observar o efeito de probióticos sobre a frequência e na intensidade deste tipo de transmissão.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o efeito do probiótico *Saccharomyces boulardii* sobre a transmissão vertical em camundongos com toxocaríase.

2.2. Objetivos Específicos

Avaliar o efeito do probiótico *Saccharomyces boulardii* sobre a frequência da transmissão vertical de larvas de *Toxocara canis* em camundongos fêmeas infectadas no terço final da gestação.

Investigar o efeito do probiótico *Saccharomyces boulardii* sobre a intensidade de transmissão de larvas de *Toxocara canis* para a prole de camundongos fêmeas infectadas no terço final da gestação.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1. *Toxocara canis* – Toxocaríase Humana

A síndrome da larva *migrans* visceral (LMV) foi descrita por Beaver, 1952 e o helminto *Toxocara canis* Werner, 1782 foi o primeiro agente etiológico desta parasitose a ser identificado (NICHOLS, 1956). A maioria dos casos de LMV ou toxocaríase humana está associada ao parasitismo causado por larvas de *Toxocara spp.*, parasito intestinal de cães e gatos. Este gênero pertence ao filo Nematoda, classe Secernentea, ordem Ascaridida, superfamília Ascaridoidea e família Anisakidae. As espécies mais importantes na saúde pública são *T. canis* e *T. cati*, sendo que a primeira espécie é mais frequentemente associada aos casos de toxocaríase humana (DESPOMMIER, 2003; SMITH *et al.*, 2009).

A LMV é definida como resultado da migração e sobrevivência de larvas de helmintos no organismo de um hospedeiro não habitual (BEAVER, 1969). Nos seres humanos (hospedeiros acidentais) (FELDMAN; PARKER, 1992), as larvas não evoluem, mas podem permanecer viáveis, encapsuladas em granulomas, durante meses ou anos (DESPOMMIER, 2003; RUBINSKY-ELEFANT *et al.*, 2010). Os órgãos mais frequentemente parasitados são o fígado e os pulmões, podendo atingir outros órgãos como o encéfalo e olhos (ORÉCIFE *et al.*, 2007).

As manifestações clínicas e os achados histopatológicos dependem dos órgãos acometidos e dos danos nos tecidos causados pela migração das larvas (**Figura 1**) e pela reação alérgica e inflamatória no organismo do hospedeiro (GLICKMAN; SCHANTZ, 1981).

As formas clínicas mais conhecidas são a LMV ou toxocaríase visceral sistêmica, e a síndrome da larva *migrans* ocular (LMO) ou toxocaríase ocular. A LMV acomete principalmente crianças de idade pré-escolar e a LMO acomete crianças com idade superior a seis anos de idade e adultos (MAGNAVAL; DORCHIES; MORASSIN, 2000). A LMV pode apresentar hipereosinofilia, hepatomegalia, febre e envolvimento pulmonar (GLICKMAN; SCHANTZ, 1981), que resulta em sintomatologia inespecífica como bronquiolite aguda, asma, pneumonite ou a combinação destes fatores (FELDMAN; PARKER, 1992). Assim, a gama de sintomas é inespecífica e pode dificultar o diagnóstico. Enquanto que, na LMO o

diagnóstico é menos complexo, e se baseia na detecção de granuloma característico durante o exame de fundo de olho (KOCIECKI; KOCIECKA, 2004).

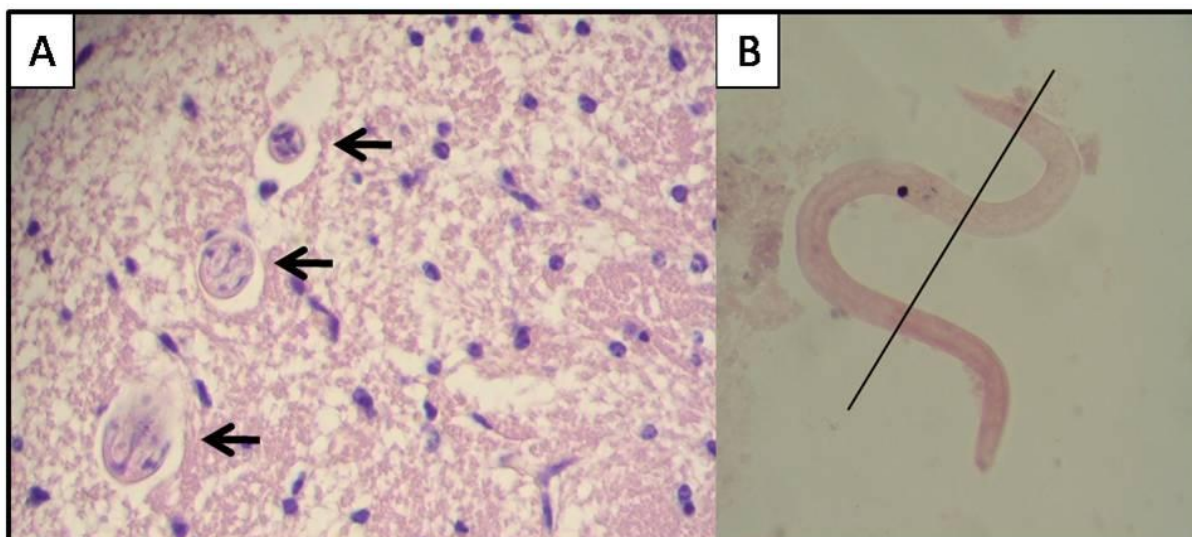


Figura 1 – A) Corte histológico de encéfalo de camundongo, as setas indicam três segmentos transversais da larva de *Toxocara canis* em posição serpentiforme (aumento 400x); **B)** Larva de *Toxocara canis* íntegra obtida de ovo embrionado. A linha indica o plano de corte para comparar com o corte transversal obtido na técnica histológica (aumento 100x). Coloração Hematoxilina-Eosina, fixador formalina 10%, inclusão em parafina, espessura de corte 7µm. Fotos não publicadas, de autoria de Cruz, L.A.X.(2012).

Várias outras formas clínicas foram descritas, sendo que as principais são a forma oculta, neurológica e assintomática (MAGNAVAL; DORCHIES; MORASSIN, 2000). A toxocaríase oculta é considerada uma entidade clínica que agrupa duas formas originalmente descritas, como “*covert toxocariasis*” (BASS *et al.*, 1983; BASS *et al.*, 1987; TAYLOR *et al.*, 1987) e “*common toxocariasis*” (GLICKMAN *et al.*, 1987), sendo que a primeira acomete crianças e a segunda atinge os adultos. Na toxocaríase oculta, pode haver alterações respiratórias, dores abdominais, cefaleia, distúrbio do sono, com eosinofilia ausente (SMITH *et al.*, 2009).

Nos indivíduos portadores assintomáticos pode haver reativação das larvas de *T. canis* encapsuladas no organismo, tendo como consequência a migração por tropismo para os olhos ou cérebro. Desse modo, torna-se importante o monitoramento do paciente para avaliar a necessidade da realização do tratamento (PAWLOWSKI, 2001). Apesar de a toxocaríase neurológica ser rara, é importante a

realização do diagnóstico diferencial de outras patologias do sistema nervoso central (FINSTERER; AUER, 2007).

A carência de sintomatologia específica das formas clínicas desta parasitose, exceto na forma ocular, e de um método de diagnóstico padrão-ouro, fazem com que o diagnóstico seja dependente da pesquisa de anticorpos (IgG contra *Toxocara spp.*) pelo ensaio imunoenzimático (ELISA), associado a sintomatologia e a dados epidemiológicos. Esta abordagem representa a melhor alternativa para um diagnóstico presuntivo (SMITH *et al.*, 2009).

3.2. Modos de infecção

O modo de infecção mais frequente por *T. canis* é pela ingestão de ovos embrionados presentes no solo, os quais também podem ser veiculados nos pêlos de cães (AMARAL *et al.*, 2010), fômites, mãos sujas, hortaliças e pela água (SHANTZ; GLICKMAN, 1978). Assim, a onicofagia (ALDERETE *et al.*, 2003), geofagia, pica, higiene precária e o contato frequente com cães jovens, fazem das crianças um importante grupo de risco para infecção. Entretanto, todas as faixas etárias podem ser acometidas (MAGNAVAL *et al.*, 2001; HOFFMEISTER *et al.*, 2007).

Contudo, a complexa biologia do nematoide *T. canis*, permite outras formas de infecção que incluem a transmissão vertical (transplacentária ou transmamária) das larvas que ocorre tanto nos hospedeiros definitivos, quanto nos paratênicos (ANDERSON, 1996; OVERGAAUW, 1997), além da relação predatória entre hospedeiros definitivos e hospedeiros paratênicos (GLICKMAN; SCHANTZ, 1981).

No hospedeiro paratênico, as larvas infectantes permanecem vivas e encistadas nos órgãos, sendo transportadas por um ou vários hospedeiros paratênicos até chegar ao hospedeiro definitivo (BAER, 1951). Assim, o consumo de carne ou vísceras cruas ou mal cozidas de espécies de animais que desempenham o papel de hospedeiro paratênico representa risco de infecção para os seres humanos. Nas últimas décadas vem crescendo o número de relatos de toxocaríase humana associados ao consumo de produtos mal cozidos ou *in natura* de frango (NAGAKURA *et al.*, 1989), cordeiro (SALEM; SCHANTZ, 1992), coelho (STÜRCHLER *et al.*, 1989), pato (HOFFMEISTER *et al.*, 2007) e bovino (CHOI *et al.*, 2008).

3.2.1. Transmissão vertical

3.2.1.1. Transmissão vertical em hospedeiros definitivos

Como citado anteriormente, a transmissão vertical representa mais uma forma de propagação do parasitismo por *T. canis* (GLICKMAN; SCHANTZ; CYPRESS, 1979) e é a forma de transmissão que garante manutenção desta enzootia entre os cães, hospedeiros definitivos preferenciais. Webster (1958), ao estudar a infecção pré-natal por *T. canis* em cães, levantou a hipótese de que as larvas encapsuladas nos tecidos desses hospedeiros pudessem retomar sua atividade migratória, provavelmente, pelas variações hormonais que acompanham a gestação.

Este modo de transmissão pode ocorrer por duas vias: a transplacentária e a transmamária. No caso das duas espécies de nematoides intestinais mais prevalentes de cães, existe diferença no tropismo das larvas. A via transplacentária é a mais frequente para as larvas de *T. canis*, e enquanto que a via lactogênica é para as larvas de *Ancylostoma caninum* (BURKE; ROBERSON, 1985).

Além da via preferencial de transmissão, outro aspecto importante é o período da gestação em que ocorre a infecção. Cui, Wang e Han (2006), ao estudar a transmissão congênita pelo nematoide *Trichinella spiralis* em ratos infectados experimentalmente, observaram que a transmissão transplacentária ocorreu quando a fêmea foi infectada na metade do período gestacional ou quando a fertilização ocorreu um mês após a infecção.

Para *T. canis*, o período gestacional da cadela em que ocorre a infecção pode determinar a via da transmissão vertical. Assim, quando a infecção na cadela ocorrer antes ou no início da gestação, a via de transmissão preferencial será a transplacentária (STOYE, 1976; BURKE; ROBERSON, 1985; OVERGAAUW, 1997). Entretanto, se infecção for tardia, no último quarto da gestação, a via de transmissão predominante será a transmamária (STOYE, 1976).

Convém salientar que a transmissão vertical também é observada em outras espécies do gênero *Toxocara*. Roberts (1990), em seu estudo sobre o ciclo de *Toxocara vitulorum*, parasito intestinal de bubalinos, observou a importância da infecção transmamária ao detectar a presença de larvas, marcadas com selênio 75, nas

glândulas mamárias das vacas, um a oito dias pré-parto e no leite nos primeiros sete dias da lactação.

Na espécie *Toxocara cati*, parasito intestinal, preferencialmente, de gatos, a transmissão transmamária ocorre apenas quando a gata se infecta durante a gestação, ou seja, este tipo de transmissão não ocorre na infecção crônica (EPE, 2009). Até o presente, não existem evidências de que gatas com toxocaríase crônica sirvam como reservatório para larvas de *T. cati* (COATI; SCHNIEDER; EPE, 2004).

3.2.1.2. Transmissão vertical em camundongos (modelos experimentais)

A ocorrência da transmissão vertical por *T. canis*, *T. cati* e *T. vitulorum* nos seus respectivos hospedeiros definitivos (cães, gatos, bubalinos), fez com que vários estudos fossem realizados em camundongos, principais modelos experimentais da toxocaríase humana, visando ampliar os conhecimentos sobre este tipo de transmissão.

Os camundongos também desempenham o papel de hospedeiro paratênico de *T. canis*, ou seja, as larvas infectantes deste parasito se alojam nos tecidos do hospedeiro sem evoluir. Nos camundongos, o encéfalo e a musculatura esquelética estriada representam os sítios preferenciais das larvas de *T. canis* (WADE; GEORGI, 1987). Dunsmore, Thompsom e Bates (1983) sugeriram que o encéfalo pode ser uma espécie de reservatório para larvas de *T. canis*, devido a baixa resposta inflamatória neste órgão, onde permanecem na gestante até serem transmitidas para a prole.

Os primeiros estudos com camundongos, nesta área, visavam demonstrar a importância da infecção congênita. Um dos principais trabalhos foi realizado por Lee, Min e Soh (1976), quando foi sugerida a importância da transmissão transplacentária, ao recuperar larvas de *T. canis* em placentas e fetos de camundongos gerados por fêmeas infectadas durante a gestação, porém os autores não realizaram estudos com neonatos e lactentes.

Estudos posteriores demonstraram a maior prevalência e importância da infecção transmamária em camundongos. Reiterová, Tomasovicová e Dubinský (2003) observaram a influência da toxocaríase aguda sobre a gestação de

camundongos C57BL6/J, inoculados com ovos de *T. canis* no dia do acasalamento (infecção inicial) ou no 14º dia da prenhez (infecção tardia). Diagnosticaram positividade na prole, de ambos os grupos, a partir do quinto dia de lactação, registrando menor número de neonatos nas fêmeas infectadas do que nas fêmeas não infectadas (controle).

A ocorrência da transmissão transmamária foi observada por Aguiar (2009) em 19,8% dos camundongos Balb/c gerados por fêmeas não infectadas e amamentados por fêmeas infectadas com *T. canis*. Neste mesmo trabalho, também foi verificada a ocorrência de transmissão pela via transplacentária em apenas 4,2% dos casos. O autor observou também que a parasitose foi responsável pela redução no tamanho das ninhadas, dado já referido por Akao, Desowitz e Kondo (1990), que verificaram que a toxocaríase crônica influenciou no tamanho das ninhadas de fêmeas de camundongos Balb/c.

A influência da prolactina como estímulo à infecção transmamária foi primeiramente estudada por Oshima (1961), ao observar redução do número de larvas de *T. canis* em camundongos, fêmeas, não prenhes tratadas com este hormônio e em fêmeas gestantes. Posteriormente, a influência da prolactina na infecção transmamária por *T. canis* foi ratificada por Jin, Akao e Ohta (2008). Telmo (2006), ao infectar camundongos Balb/c, fêmeas, imediatamente após o parto, registrou positividade para larvas de *T. canis* em 73,9% dos lactentes.

A transmissão passiva de anticorpos (IgG) contra *T. canis*, foi registrada em três proles de fêmeas de camundongos Balb/c com toxocaríase crônica, com declínio dos níveis de IgG nos primeiros dias de vida da prole. Este fato concorda com a ideia de que as fêmeas progenitoras funcionam como reservatórios de larvas que podem ser transmitidas para diferentes ninhadas (SCHOENARDIE, 2002).

As parasitoses congênitas podem causar danos aos fetos ou modular sua resposta imune, dependendo da sensibilização ou da tolerância desenvolvidas no útero materno. Na toxocaríase murina, as ninhadas são hiporreativas quando a infecção por *T. canis* ocorre no início da gestação e demonstram alta hiperreatividade (elevação nos níveis de IgE total, eosinofilia e grande número de larvas) quando a infecção ocorre no período final da gestação (OTEIFA; MOUSTAFA; EL-GOZAMY, 1996).

A transmissão vertical, além de perpetuar o parasitismo nas gerações seguintes, gera consequências, tanto para a gestante, quanto para a prole. Nas gestantes, normalmente, podem resultar em deficiências nutricionais que acabam desencadeando atraso no crescimento e desenvolvimento da prole ou até mesmo a interrupção da gestação (STEKETEE, 2003).

3.2.1.3. Estudos da transmissão vertical em seres humanos

Os estudos sobre transmissão vertical em modelos experimentais (OSHIMA, 1961; LEE; MIN; SOH, 1976; AKAO; DESOWITZ; KAORU, 1990; OTEIFA; MOUSTAFA; EL-GOZAMY, 1996) e a observação de larvas de *T. canis* em granulomas no encéfalo de cordeiros recém-nascidos (hospedeiros paratênicos), alertaram a comunidade científica para o risco de infecção congênita em seres humanos (hospedeiros acidentais) (ANDERSON, 1996).

Apenas em 2006, foi feito o primeiro registro, e único até o momento, da infecção congênita em humanos. Neste relato, foi diagnosticada retinopatia em um neonato prematuro, sendo detectada na lesão a presença de larva compatível com a morfologia de *T. canis*. O neonato apresentava eosinofilia alta e a mãe sorologia positiva (IgG) para *T. canis* (MAFFRAND *et al.*, 2006).

Portanto, é relevante a realização de pesquisas que visem conhecer melhor o impacto da toxocaríase gerado na saúde da gestante e do neonato, porém são escassos os estudos nesta área (PEREIRA, 2007), os quais revelam variação nas taxas de soroprevalência em gestantes de 4,5% a 35,3% (TAYLOR *et al.*, 1996; CUNNINGHAM; ZAYAS, 2002; GASANOVA, 2003).

3.3. Dificuldade do controle da toxocaríase humana

A crescente população de cães domiciliados, peridomiciliados e errantes, associada ao fácil acesso desses animais às praças, parques e jardins, permitem a ampla dispersão de ovos de *T. canis* e, a consequente exposição ao risco de infecção para os seres humanos (GLICKMAN; SCHANTZ, 1981).

Desse modo, torna-se indispensável o exercício da posse responsável, visando: o tratamento dos cães recém-nascidos devido a possível infecção

congenita ou lactogênica; tratamento periódico dos cães precedido exame parasitológico de fezes; controle populacional; recolhimento de dejetos em ambiente externo e destino apropriado para estes dejetos (EPE, 2009).

Os procedimentos supracitados visam diminuir a contaminação ambiental por ovos de *T. canis*, pois estes ovos são extremamente resistentes a agentes químicos, climáticos e aos tratamentos convencionais de esgotos, podendo resistir por mais de um ano em ambientes favoráveis, tais como em solo argiloso e áreas sombreadas. Entretanto, são vulneráveis aos efeitos dos raios solares diretos, ao dessecamento e às temperaturas superiores a 37°C. Em temperaturas entre 10°C e -15°C não ocorre embriogênese e a -15°C ocorre letalidade das larvas (GLICKMAN; SCHANTZ, 1981; LESCOANO; NAKHLE; CHIEFFI, 1998).

Em relação ao tratamento da toxocaríase humana, os fármacos indicados são os derivados benzimidazólicos como tiabendazol, albendazol (STÜRCHLER *et al.*, 1989) e mebendazol, além da dietilcarbamazina (MAGNAVAL, 1995) e da ivermectina (MAGNAVAL, 1998). O tratamento de escolha é feito com albendazol na dosagem de 10mg/kg duas vezes ao dia durante cinco dias, associado a tratamento sintomático que inclui administração de corticosteróides (DESPOMMIER, 2003). Entretanto, a resolução clínica com os tratamentos específicos é moderada, variando de 47% a 70% (MAGNAVAL *et al.*, 2001).

Diante deste contexto, ou seja, da dificuldade na realização do tratamento e controle da toxocaríase humana, e da possível reinfecção, torna-se importante a busca por novas estratégias para o controle desta parasitose. Dentre as possíveis alternativas, encontram-se os agentes probióticos, os quais vêm demonstrando potencial para diferentes aplicações terapêuticas e na modulação da resposta imune (CAETANO *et al.*, 1986; CLANCY, 2003; OLIVEIRA-SEQUEIRA; RIBEIRO; GOMES, 2008).

3.4. Probiótico – *Saccharomyces boulardii*

Os probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2001). Entretanto, com os avanços no conhecimento acerca dos mecanismos de ação dos probióticos, foi proposto o conceito de “imunobiótico”, que considera a

capacidade destes microrganismos atuarem na modulação do sistema imune do hospedeiro e conduzir a efeitos que extrapolam os limites da mucosa intestinal (CLANCY, 2003).

A levedura *Saccharomyces boulardii*, tem sido usada em muitos países, tanto na prevenção, como no tratamento de problemas gastrintestinais causados por agentes infecciosos. Esta levedura apresenta várias propriedades que a tornam um agente probiótico potencial: (a) sobrevive ao trânsito e a temperatura do trato gastrintestinal; (b) inibe o crescimento de microrganismos patogênicos tanto *in vitro* quanto *in vivo*; (c) apresenta resistência natural aos antibióticos, conferindo a vantagem de poder ser usado em combinação com antibióticoterapia (CZERUCKA; PICHE; RAMPAL, 2007).

Há relatos de efeitos benéficos dos probióticos empregados em infecções causadas tanto por protozoários como por helmintos. Com relação a protozoários foram obtidos resultados favoráveis ao uso de probióticos em infecções por *Cryptosporidium parvum* (PICKERD; TUTHILL, 2004) e *Giardia intestinalis* (HUMEN *et al.*, 2005), enquanto, nas infecções por helmintos, os efeitos benéficos dos probióticos foram obtidos contra *Trichinella spiralis* (BAUTISTA-GARFIAS *et al.*, 2001).

Estudos sobre a utilização dos probióticos no controle da toxocaríase têm sido realizados em modelos experimentais. O potencial do probiótico *Enterococcus faecalis* para auxiliar no controle da toxocaríase visceral foi observado em camundongos (BASUALDO *et al.*, 2007). Posteriormente, foi verificado que a levedura *S. boulardii* promove redução na intensidade de infecção em camundongos com toxocaríase visceral aguda (29,7%) e crônica (27,7%) (AVILA, 2010). Mesmo quando foram inoculados números reduzidos de ovos embrionados de *T. canis* (25 a 50) em camundongos, também foi verificado efeito protetor de *S. boulardii*. Estes dados são relevantes quando comparados com a moderada eficácia (47-70%) dos diversos tratamentos com anti-helmínticos (MAGNAVAL *et al.*, 2001).

Embora, o mecanismo de ação de *S. boulardii* não seja totalmente conhecido (BUTS, 2005), novos estudos podem contribuir para sua elucidação, além de atribuir novas aplicações terapêuticas a esta levedura (ZANELLO *et al.*, 2009). Contudo, vários mecanismos têm sido propostos para explicar o efeito dos probióticos contra patógenos intestinais. Estes mecanismos foram resumidos por Rolfe (2000), em sua revisão, e envolvem: a produção de substâncias inibitórias que reduzem a

viabilidade do patógeno; o bloqueio dos sítios de aderência; competição por nutrientes e a modulação da imunidade inata e adquirida do hospedeiro. Sobre a imunidade inata foi demonstrado, *in vitro*, que a levedura ativa o complemento e a migração de monócitos e granulócitos (CAETANO *et al.*, 1986), além de aumentar o número de células de Küpffer no fígado (RODRIGUES *et al.*, 2000). Com relação à imunidade adquirida, *S. boulardii*, estimula secreção de IgA (QAMAR *et al.*, 2001), no fluido duodenal tanto nas células das vilosidades, quanto nas das criptas e isso pode proteger o hospedeiro contra patógenos (BUTS *et al.*, 1990).

4 METODOLOGIA

4.1. Camundongos

Camundongos *Swiss*, de cinco a sete semanas de idade, oriundos do Biotério Central da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), foram mantidos no biotério setorial da Faculdade de Medicina (FAMED/FURG), em ambiente controlado, com temperatura de 22°C (± 1), ciclo de iluminação de 12 horas claro e 12 horas escuro.

4.2. Probiótico

O probiótico *S. boulardii* foi cedido pelo Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Biotecnologia, da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). Os procedimentos de armazenamento e controle de qualidade (viabilidade da cultura, contagem de colônias e avaliação de pureza) foram realizados no Laboratório de Micologia - FAMED/FURG. Cada lote do probiótico foi mantido em solução salina fosfatada tamponada (PBS), pH 7,2 a 4°C, sendo utilizado no prazo máximo de 20 dias após a sua produção.

4.3. Suplementação da ração com probiótico *Saccharomyces boulardii*

Para suplementação com *S. boulardii*, a ração comercial (Labcol®) foi triturada e misturada com a suspensão do probiótico, obtendo a concentração final de 10^7 Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por grama de ração (COPPOLA; CONCEIÇÃO; GIL-TURNES, 2005). A seguir, a ração foi moldada em *pellets* (repeletizada) e seca em estufa com circulação forçada de ar (CIENLAB®), a 40°C, por 20 a 24 horas. Também foi utilizada a mesma ração comercial, sem suplementação com probiótico, para alimentar os camundongos do grupo controle.

Os critérios para aprovação dos lotes de ração com probiótico foram: (a) ausência de contaminantes; (b) manutenção da concentração de 10^7 UFC de *S. boulardii* por grama de ração (COPPOLA; CONCEIÇÃO; GIL-TURNES, 2005); (c)

umidade inferior a 12%, conforme Instrução Normativa nº 7, de 5 de abril de 1999, da Secretaria de Desenvolvimento Rural, do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 1999).

4.4. Delineamento Experimental

4.4.1. Grupos

Foram formados dois grupos de camundongos, fêmeas, de cinco a sete semanas de idade (G1 e G2).

G1 – Oito fêmeas receberam, diariamente, ração suplementada com o probiótico *S. boulardii* (10^7 UFC/grama de ração), durante 15 dias antes do acasalamento, na gestação e nos 21 dias de lactação (COPPOLA; CONCEIÇÃO; GIL-TURNES, 2005; AVILA, 2010).

G2 (controle) – Oito fêmeas receberam, diariamente, ração sem probiótico, durante os mesmos períodos utilizados no G1 (AVILA, 2010).

4.4.2. Acasalamento

Em cada caixa, duas fêmeas e um macho foram mantidos durante uma a quatro noites, sendo averiguado na manhã seguinte (até às 9 horas) se ocorreu a formação de um tampão vaginal (composto por sêmen coagulado e secreções vaginais no introito vaginal). A presença do tampão vaginal foi o indicador para determinar a data do acasalamento (PEREIRA, 2008).

4.4.3. Infecção experimental e eutanásia dos camundongos

A fêmea positiva (com tampão vaginal) foi transferida para uma caixa, sendo mantida individualmente até o final do experimento. Deste modo, foi possível determinar o 14º dia de gestação para realizar a infecção experimental (REITEROVÁ, TOMASOVICOVÁ e DUBINSKÝ, 2003), com 300 ovos embrionados de *T. canis*, por sonda intragástrica (JIN, AKAO e OHTA, 2008). No 21º dia de

lactação, foi realizada eutanásia das fêmeas lactantes e dos respectivos lactentes, em câmara de CO₂ (AVMA, 2007).

Para diminuir o erro experimental, foi realizado o estudo pareado de uma fêmea lactante do G1 e do G2, bem como de seus respectivos lactentes.

4.4.4. Pesquisa de larvas de *Toxocara canis* nos tecidos

Os órgãos (encéfalo, fígado, pulmões, coração, rins, baço e globos oculares) e a musculatura esquelética (carcaça) dos lactentes do G1 e G2 foram submetidos a técnica de digestão tecidual com solução de pepsina 1% e ácido clorídrico 1%, sob agitação constante, a 37°C, durante 16 horas (WANG; LUO, 1998). Também foram submetidos a técnica de digestão tecidual os mesmos órgãos supracitados, glândulas mamárias e a carcaça das fêmeas lactantes do G1 e G2. A pesquisa de larvas de *T. canis* no material digerido foi realizada em microscópio de luz (SCAINI, 2001).

4.4.5. Critérios de controle do experimento

- (a) Confirmar a infecção por larvas de *T. canis* nas fêmeas lactentes inoculadas com 300 ovos embrionados;
- (b) Confirmar a transmissão vertical por larvas de *T. canis* nos camundongos do grupo controle (alimentados com ração sem probiótico).

4.5. Aspectos éticos

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética em Uso Animal (CEUA), FURG (processo número 23116.004264/2011-00). O manuseio e os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com a legislação Brasileira (Lei Nº 11.794 de 8 de outubro de 2008), seguindo as normas do Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA) e as recomendações e princípios éticos da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL).

4.6. Análise Estatística

Os dados do estudo da transmissão vertical, referentes à diferença no número de larvas transmitidas para a prole e a frequência da transmissão vertical foram avaliados pelo teste do χ^2 (Qui-quadrado), considerando o nível de significância de 0,05.

5 RESULTADOS

A frequência da transmissão vertical (**Tabela 1**) no grupo de fêmeas que recebeu ração suplementada com *S. boulardii* (G1), foi de 46,8% (29/62), e no grupo de fêmea que recebeu ração sem probiótico (G2) foi de 60% (37/65). A média de lactentes positivos por fêmea lactante foi de 3,6 no G1 e de 4,6 no G2. Estes valores representam uma transmissão 21,6% menor ($p>0,05$) para os lactentes do G1 (probiótico) em relação ao G2 (controle). Os resultados individuais do número de larvas de *Toxocara canis* recuperadas nos órgãos e carcaça de cada lactente encontram-se no **Apêndice A**.

Tabela 1 – Redução na frequência da transmissão vertical de *Toxocara canis* em camundongos Swiss infectados no terço final da gestação, alimentados com ração contendo o probiótico *Saccharomyces boulardii* (G1) e sem o probiótico (G2).

Grupo	Nº de lactantes	Nº de lactentes	Média*	Nº de lactentes Positivos	Média**
			DP		DP
<i>S. boulardii</i> (G1)	08	62	7,8 $\pm$ 2,6	29	3,6 $\pm$ 2,9
Controle (G2)	08	65	8,1 $\pm$ 1,7	37	4,6 $\pm$ 2,6
			Redução	21,6%	$p>0,05$

*Média de lactentes por lactante.

**Média de lactentes positivos por lactente.

DP Desvio Padrão.

Houve diferença de 42,1% ($p=0,026$) no número de larvas de *T. canis* transmitidas para a prole do G1 (probiótico) em relação ao G2 (controle) (**Figura 2 - A**). Também ocorreu diferença de 11,2% ($p>0,05$) entre o total de larvas recuperadas no G1 e G2 (**Figura 2 - B**).

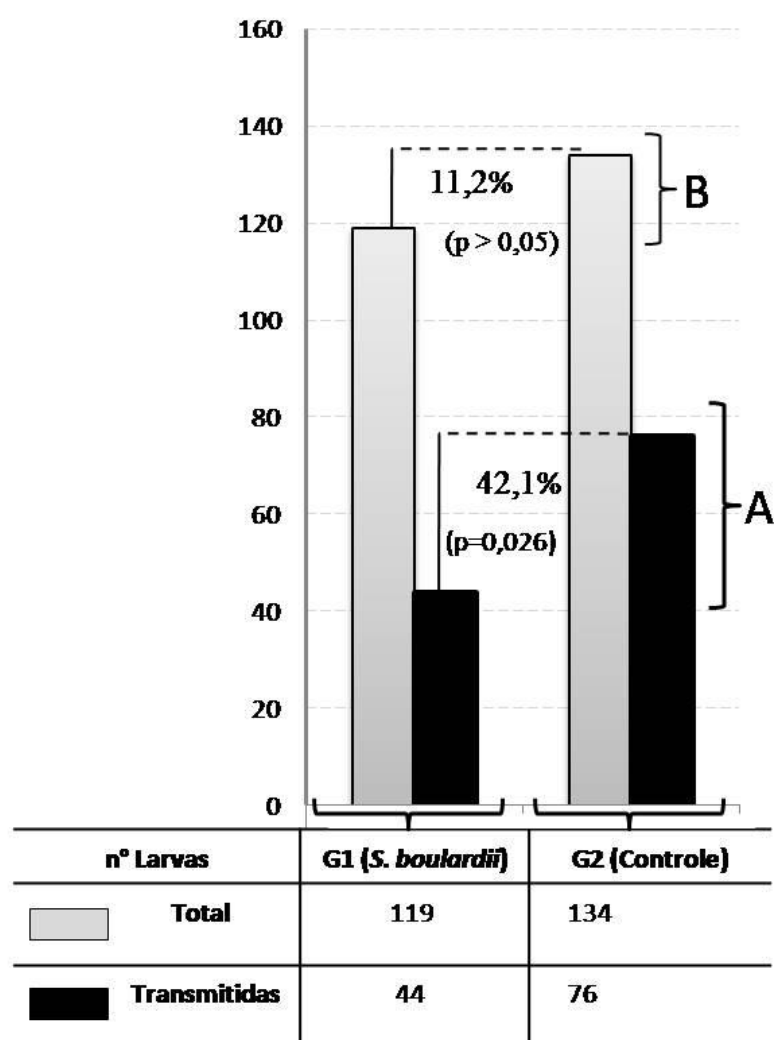


Figura 2 – Efeito do probiótico *Saccharomyces boulardii* em camundongos, fêmeas, infectadas no terço final de gestação **(A)** Diferença entre o número de larvas transmitidas; **(B)** Diferença entre o total de larvas recuperadas no G1 e G2.

Na **Tabela 2**, pode-se verificar a distribuição absoluta e relativa das larvas de *T. canis* nos lactentes do G1 (*S. boulardii*) e do G2 (controle). Considerando somente os animais positivos, observou-se que na maioria dos lactentes do G1 (65,52%) e do G2 (51,35%) foi detectada apenas uma larva do parasito. Entretanto, em 34,48% dos lactentes do G1 foram recuperadas duas a quatro larvas e em 48,65% dos lactentes do G2 foram detectadas duas a seis larvas. Os resultados agrupados para cada fêmea progenitora e sua respectiva prole encontram-se no **Apêndice C**.

Tabela 2 – Frequência para larvas de *Toxocara canis* em lactentes de camundongos, gerados por fêmeas, infectadas experimentalmente no terço final da gestação.

Número de larvas	G1(<i>Saccharomyces boulardii</i>) (n=8)*		G2 (Controle) (n=8)*	
	Número de lactentes	Frequências relativas	Número de lactentes	Frequências relativas
1	19	65,52%	19	51,35%
2	06	20,69%	09	24,32%
3	03	10,34%	04	10,81%
4	01	3,45%	-	-
5	-	-	03	8,11%
6	-	-	02	5,41%
Totais	29	100%	37	100%

* Número de fêmeas progenitoras.

Dentre os órgãos analisados, as larvas mostraram tropismo pelo encéfalo. Das 44 larvas transmitidas para os lactentes do G1, 26 (59,1%) foram recuperadas neste órgão e das 76 larvas transmitidas para os lactentes do G2, 52 (68,4%) foram recuperadas no encéfalo. Para os demais órgãos as frequências foram reduzidas sendo que no baço nenhuma larva foi encontrada (**Tabela 3**).

Tabela 3 – Distribuição de larvas de *Toxocara canis* em órgãos e na musculatura estriada esquelética de camundongos gerados e amamentados por fêmeas infectadas no terço final da gestação, alimentadas com ração com probiótico (G1 - *Saccharomyces boulardii*) e sem probiótico (G2 – controle).

Ninhada	GO*	PL*	COR*	BÇ*	ENC*	R*	F*	CARC*	Total
G1 A	01	-	-	-	06	-	01	02	10
G1 B	-	-	-	-	04	-	-	02	06
G1 C	-	02	01	-	04	-	03	02	12
G1 D	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G1 E	-	01	-	-	05	-	-	02	08
G1 F	-	-	-	-	-	-	-	01	01
G1 G	-	-	-	-	06	-	-	-	06
G1 H	-	-	-	-	01	-	-	-	01
Total	01	03	01	-	26	-	04	09	44
(%)	(2,30)	(6,82)	(2,30)	-	(59,10)	-	(9,01)	(20,50)	(100)
G2 A	-	-	-	-	05	-	01	02	08
G2 B	-	01	-	-	17	-	-	06	24
G2 C	02	-	-	-	13	-	01	-	16
G2 D	-	-	-	-	01	-	01	-	02
G2 E	-	-	-	-	05	-	01	04	10
G2 F	-	-	02	-	04	-	-	-	06
G2 G	-	-	-	-	04	01	-	02	07
G2 H	-	-	-	-	03	-	-	-	03
Total G2	02	01	02	-	52	01	04	14	76
(%)	(2,63)	(1,32)	(2,63)	-	(68,42)	(1,32)	(5,26)	(18,42)	(100)

*Órgãos avaliados: (GO) Globo ocular, (PL) Pulmão, (COR) Coração, (ENC) Encéfalo, (R) Rim, (F) fígado, (CARC) Carcaça ou musculatura estriada esquelética.

Todas as oito fêmeas lactantes do G1 e do G2 foram positivas para larvas de *T. canis*, sendo o encéfalo o órgão com maior número recuperação de larvas. Além disso, foram recuperadas larvas deste parasito nas glândulas mamárias de quatro fêmeas do G1 e em três do G2 (**Apêndice B**).

6 DISCUSSÃO

Para *Toxocara canis*, o modo de infecção mais conhecido, é através da ingestão acidental de ovos embrionados presentes no solo, assim, a maioria das estratégias de controle adotadas visa prevenir este modo de infecção, apesar de não ser o único. A partir da comprovação feita por Maffrand *et al.* (2006) sobre ocorrência da infecção congênita por *T. canis* na espécie humana, além da conhecida importância deste modo de transmissão tanto nos hospedeiros definitivos quanto nos paratênicos, tornou-se relevante a realização de estudos que visem a prevenção e/ou controle da transmissão vertical na toxocaríase.

Contudo, os fármacos normalmente usados no tratamento das helmintíases intestinais e que também são indicados nos casos de toxocaríase visceral humana, apresentam apenas eficácia moderada contra as larvas de *T. canis* encapsuladas nos tecidos (MAGNAVAL *et al.*, 2001). Desse modo, pode haver eliminação parcial do total de larvas de *T. canis* e estas podem permanecer viáveis, servindo como fonte de infecção para transmissão vertical deste nematoide.

Apesar das novas políticas para uso de anti-helmínticos passarem a incluir a participação de gestantes, lactantes e crianças com menos de um ano de idade, nas campanhas para controle de geo-helmintíases e da esquistossomose (ALLEN *et al.*, 2002). Ainda é recomendada avaliação criteriosa dos riscos e benefícios destes tratamentos específicos, principalmente durante o primeiro trimestre de gestação (SINXADI; MAARTENS, 2009), sobretudo pelo fato de que os esquemas de tratamentos, normalmente empregados, não garantem eficácia absoluta contra a toxocaríase visceral. Além desta parasitose ainda não estar relacionada entre as que podem ser transmitidas durante a gestação (PEREIRA, 2007).

Neste contexto, surge a possibilidade de aplicar microorganismos probióticos para os quais se obteve resultados promissores na redução da intensidade de infecção por larvas de *Toxocara canis* em camundongos infectados experimentalmente (BASUALDO, 2007; AVILA, 2010; CARDOSO, 2010) e os quais podem ter efeitos que extrapolam os limites da mucosa intestinal (CLANCY, 2003).

Deve ser salientado que a gestação e a lactação são biologicamente favoráveis à estratégia de sobrevivência deste nematoide, sobretudo em relação ao favorecimento da transmissão vertical das larvas de *T. canis* (GLICKMAN; SCHANTZ, 1981). Embora as condições do presente estudo fossem plenamente favoráveis ao parasitismo, foi observada redução de 21,6% na frequência de lactentes positivos para larvas de *T. canis*. Embora não tenha sido um resultado estatisticamente significativo, foi o primeiro indício do efeito protetor obtido neste estudo, pela suplementação da dieta com o probiótico *S. boulardii*.

Um aspecto importante a ser considerado, é que a eficácia de um determinado tratamento ou fármaco não depende apenas do princípio ativo, mas da dose, da formulação utilizada, da frequência de administração e da duração do tratamento (FÓK; KASSAI, 1998). Estes fatores ainda, não foram determinados em um esquema de tratamento em ensaios pré-clínicos com probióticos durante a gestação, visando prevenção ou redução da transmissão de larvas de *T. canis* para a prole. A redução de 21,6% observada neste estudo constitui-se em um resultado que permite inferir a vantagem para a prole de fêmeas que consumiram *S. boulardii*, sendo necessária a realização de novos estudos, uma vez que a possibilidade de proteger um filhote em cada ninhada pode ser um dado bastante promissor (**Tabela 1**).

A suplementação com *S. boulardii* mostrou ser segura tanto para as progenitoras e lactantes quanto às proles. Os animais apresentaram um comportamento ativo durante todo o experimento, apesar de submetidos à infecção experimental. Não foram observados distúrbios como diarreia, anorexia, nem diferenças físicas e comportamentais nos dois grupos estudados. Nas proles não foram registradas ocorrências de malformações anatômicas.

No G1, que recebeu a suplementação com *S. boulardii*, houve redução de 42,1% ($p=0,026$) no número de larvas de *T. canis* transmitidas, quando comparado com o G2 (controle). A redução do número de larvas transmitidas representa a possibilidade de ocorrer menor dano aos tecidos e órgãos dos lactentes e, conseqüentemente, uma resposta inflamatória mais branda gerada pelo sistema imune do hospedeiro (GLICKMAN; SCHANTZ, 1981).

Embora o mecanismo de ação dos probióticos responsável pela redução na transmissão vertical de larvas de *T. canis* não esteja esclarecido, dados da bibliografia apontam para a ocorrência da ação direta na mucosa intestinal e de efeitos sistêmicos. Estes últimos, estão relacionados com a capacidade de estimular as células dendríticas das placas de Peyer do intestino delgado (CLANCY, 2003) e a capacidade do sistema imune associado a mucosa intestinal (GALT – *gut-associated lymphoid tissue*) (CORMACK, 2003) de funcionar como gatilho do “sistema imune mucoso comum”, e acionar uma resposta imunológica sistêmica. Este mecanismo permite a participação de bactérias da flora intestinal e de microrganismos probióticos como imunomoduladores de respostas em sítios distantes da mucosa intestinal (CLANCY, 2003).

Caetano *et al.* (1986) estudaram os efeitos imunofarmacológicos de *S. boulardii* em voluntários saudáveis e concluíram que a ingestão desta levedura pela via oral induziu alterações celulares e humorais. Estas resultam na estimulação do sistema retículo endotelial (ou sistema mononuclear fagocitário) e na capacidade de ativação do complemento. Também há estudos sobre a capacidade deste probiótico em promover aumento do número de células de Küpffer no fígado (RODRIGUES *et al.*, 2000). Estes efeitos podem estar relacionados com defesas inespecíficas e que podem proteger o organismo contra patógenos.

Em relação à distribuição das larvas de *T. canis*, os lactentes de fêmeas suplementadas com *S. boulardii* (G1) apresentaram menor tendência de estabelecer infecção por múltiplas larvas quando comparados ao grupo controle (G2). Esta observação pode representar uma vantagem clínica para a prole cujas progenitoras receberam ração com probiótico. Assim, mesmo que a suplementação com *S. boulardii* não consiga impedir a transmissão, a capacidade desta levedura em diminuir a taxa de transmissão talvez possa representar algum benefício, seja o hospedeiro desenvolver uma infecção assintomática ou até um quadro benigno.

Em todos os camundongos analisados, tanto no grupo controle como no grupo tratado com *S. boulardii*, foi observado o tropismo das larvas de *T. canis* para o encéfalo (**Tabela 3**). Esta observação está de acordo com a bibliografia que demonstra que, neste órgão, as larvas ficam menos suscetíveis a ação do sistema imune do hospedeiro (BARRIGA, 1988; SCHANTZ, 1989; SCAINI, 2001), mas ainda podem ser estimuladas por alterações hormonais a retomarem sua atividade

migratória, permitindo a transmissão vertical para os descendentes (DUNSMORE; THOMPSON; BATES, 1983). Em relação às fêmeas lactantes, também foram recuperadas larvas das glândulas mamárias, o que está de acordo com a literatura, a qual relaciona o estímulo hormonal da prolactina, durante a lactação, com a atividade migratória das larvas em direção da referida glândula, favorecendo a transmissão pela via transmamária (JIN; AKAO; OHTA, 2008).

O total de larvas recuperadas no G1 (*S. boulardii*) foi 11,2% menor que no G2 (controle), ou seja, foram recuperadas 119 larvas no G1 (75 nas lactantes e 44 nos lactentes) e 134 no G2 (58 nas lactantes e 75 nos lactentes). Esta diferença de 11,2% pode indicar uma tendência das fêmeas suplementadas com *S. boulardii* estarem menos suscetíveis a infecção durante a gestação. Estes resultados estão de acordo como os obtidos por Avila (2010), ao verificar redução na intensidade de infecção em camundongos com toxocaríase visceral aguda (29,7%) e crônica (27,7%), sugerindo vantagem do uso desta levedura como auxiliar no controle da toxocaríase. Entretanto, no trabalho de Avila (2010) os camundongos estavam em uma condição fisiológica diferente da testada neste trabalho, lá os animais estavam com o sistema imunológico bem equilibrado.

Na gestação e lactação, períodos em foi realizado este estudo, ocorre imunossupressão fisiológica (LUPPI, 2003), fato que pode ser favorável à biologia e à estratégia de sobrevivência de *T. canis*, tanto nos animais do G1 como do G2. Neste sentido, um estudo realizado com camundongos imunossuprimidos pela administração de fármacos, revelou aumento significativo na intensidade de infecção por larvas de *T. canis*, em relação ao grupo controle (AVILA *et al.*, 2011). Assim, apesar da redução de 11,2% no total de larvas recuperadas não ter sido significativa no presente estudo, as condições eram altamente favoráveis ao parasitismo e permitem inferir a relevância do resultado.

Diante do exposto, torna-se importante investir em pesquisas sobre o emprego de *S. boulardii* e de outros probióticos, já liberados para o consumo humano, visando auxiliar no tratamento e principalmente no controle das parasitoses, em especial a toxocaríase humana.

7 CONCLUSÕES

O probiótico *Saccharomyces boulardii* apresenta potencial como auxiliar no controle da transmissão vertical de larvas de *Toxocara canis*, ao reduzir o número de larvas transmitidas para a prole.

Há evidências de que o consumo regular do probiótico *Saccharomyces boulardii*, durante a gestação e lactação, protege a prole de fêmeas de camundongos da transmissão vertical de larvas de *Toxocara canis*, ao reduzir a frequência de transmissão.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, P.S. **Infecção transmamária em camundongos Balb/c com toxocarose crônica**. 2009. 49f. Dissertação de Mestrado, Curso de Mestrado em Ciências da Saúde, Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil. Universidade Federal de Rio Grande
- AKAO, N.; DESOWITZ, R.S.; KONDO, K. Decrease in litter size of female mice with *Toxocara canis*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.84, 1990.
- AKAO, N.; OHTA, N. Toxocariasis in Japan Review. Section of Environmental Parasitology, Graduate School of Tokyo. **Medical and Dental University, Yushima 1-5-45, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-8519 Japan**, 2007.
- ALDRETE, J.M.S.; JACOB, C.M.A.; PASTORINO, A.C.; ELEFANT, G.R.; CASTRO, A.P.M.; FOMIN, A.B.F.; CHIEFFI, P.P. Prevalence of *Toxocara* infection in schoolchildren from the Butantã region, São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.98, n.5, p.593-597, 2003.
- ALLEN, H.E.; COMPTON, D.W.T.; SILVA, N.; LOVERDE, P.T.; OLDS, G.R. New policies for using anthelmintics in high risk groups . **Trends in Parasitology**, v.18, n.9, p.381-382, 2002.
- AMARAL, H.L.C.; RASSIER, G.L; PEPE, M.S.; GALLINA, T.; VILLELA, M.M.; NOBRE, M.O.; SCAINI, C.J.; BERNE, M.E. Presence of *Toxocara canis* eggs on the hair of dogs: A risk factor for visceral larva migrans. **Veterinary Parasitology**, v.174, p.115-118, 2010.
- ANDERSON, B. C. Warning about potential for congenital neural larva migrans. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.208, n.2, p.185, 1996.
- AVILA, L. F. **Avaliação do efeito de probióticos e de fármacos imunossupressores sobre a intensidade de infecção em camundongos com toxocaríase**. 2010. 55pf. Dissertação de Mestrado em Ciências da Saúde, Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil. Universidade Federal do Rio Grande.

AVILA, L.F.C.; FONSECA, J.S.V.; DUTRA, G.F.; TELMO, P.L.; AZAMBUJA, A.M.; BERNE, M.E.A.; SILVA, P.E.A.; CONCEIÇÃO, F.R.; SCAINI, C.J. Evaluation of the immunosuppressive effect of cyclophosphamide and dexamethasone in mice with visceral toxocariasis. **Parasitology Research**, v.110, p.443-447, 2011.

AVMA, 2007: AVMA, **American Veterinary Medical Association**, Guidelines on Euthanasia (Formerly Report of the AVMA Panel on Euthanasia), 2007. Disponível em: <http://www.avma.org/issues/animal_welfare/euthanasia.pdf> Acesso em 01 fev 2012.

BAER, J.G. Ecology of animal parasites. **University of Illinois Press, Urbana**, p.11-12, 1951.

BARRIGA, O.O. A critical look at the importance prevalence and control of toxocariasis and the possibilities of immunological control. **Veterinary Parasitology**, v.29, p.195-234, 1988.

BASS, J.L.; MEHTA, K.A.; GLICKMAN, L.T.; BLOCKER, R.; EPPES, B.M. Asymptomatic toxocariasis in children a prospective study and treatment trial. **Clinical Pediatrics**, v.26, p.441-446, 1987.

BASS, J.L.; MEHTA, K.A.; GLICKMAN, L.T.; EPPES, B.M. Clinically innapparent *Toxocara* infection in children. **New England Journal of Medicine**, v.308, p.723-724, 1983.

BASUALDO, J.; SPARO, M.; CHIODO, P.; CIARMELA, M.; MINVIELLE, M. Oral treatment with a potential probiotic (*Enterococcus faecalis* CECT 7121) appears to reduce the parasite burden of mice infected with *Toxocara canis*. **Annals of tropical medicine and parasitology**, v.101, n.6, p.559-562, 2007.

BAUTISTA-GARFIAS, C. R.; IXTA-RODRIGUEZ, O.; MARTÍNEZ-GÓMEZ, F.; LÓPEZ, M.G.; AGUILAR-FIGUEROA, B. R. Effect of viable or ded *Lactobacillus casei* organisms administred orally to mice on resistance against *Trichinella spiralis* infection. **Parasite (Paris, France)**, v.8, p. s226-s228, 2001.

BEAVER, P.C. Observation on the epidemiology of *Ascaris* in a region of high hookworm endemicity. **Journal of Parasitology**, v.38, p.445-453, 1952.

BEAVER, P.C. The nature of visceral larva migrans. **Journal of Parasitology**, v.55, n.1, p.3-12, 1969.

BRASIL, 1999: BRASIL, **Instrução normativa nº7 de 5 de abril de 1999**, Secretaria do Desenvolvimento Rural, Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1999

BROOKER, S.; HOTEZ, P.J. *et al.*; Hookworm-Related Anaemia among Pregnant Women: A Systematic Review. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v.2, n.9, p.291, 2008.

BURKE, T. M.; ROBERSON, E. L. Prenatal and lactational transmission of *Toxocara canis* and *Ancylostoma caninum*: Experimental infection of the bitch before pregnancy. **International journal for parasitology**, v.15, p.71-75, 1985.

BUTS, J-P. Ejemplo de un medicamento probiotico: *Saccharomyces boulardii* liofilizada. **Revista de gastroenterología del Perú : órgano oficial de la Sociedad de Gastroenterología del Perú**, v.25, p.176-188, 2005.

BUTS, J-P.;BERNASCONI, P.; VAERMAN, J-P.; DIVE, C. Stimulation of secretory IgA and secretory component of immunoglobulins in small intestine of rats treated with *Saccharomyces boulardii*. **Digestive Diseases and Sciences**, v.35, n.2, p.251-256, 1990.

CAETANO, J. A. M.; PARAMÉS, M. T.; BABO, M. J.; SANTOS, A.; FERREIRA, A. B.; FREITAS, A. A.; COELHO, M. R. C.; MATEUS, A. M. Immunopharmacological effects of *Saccharomyces boulardii* in healthy human volunteers. **International journal of immunopharmacology**, v.8, n.3, p.245-259, 1986.

CARDOSO, P.D. **Avaliação do efeito do probiótico *Saccharomyces boulardii* sobre a intensidade da infecção de larvas de *Toxocara canis* em camundongos**. 2010. Monografia para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil.Universidade Federal de Rio Grande.

CAUMES, E. Treatment of cutaneous larva *migrans* and *Toxocara* infection . **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v.17, p.213-216, 2003.

CHIEFFI, P.P.; SANTOS, S.V.; QUEIROZ, M.L.; LESCANO, S.A.Z. Human toxocariasis: Contribution by brazilian researchers. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.51, n.6, p.301-308, 2009.

CHIODO, P.G.; SPARO, M.D.; PEZZANI, B.C. MINVIELLE, M.C.; BASUALDO, J.A. *In vitro* and *in vivo* effects of *Enterococcus faecalis* CECT7121 on *Toxocara canis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.105, p.615-620, 2010.

CHOI, D.; LIM, J. H.; CHOI, D-C.; PAIK, S. W.; KIM, S-K.; HUH, S. Toxocariasis and Ingestion of Raw Cow Liver in Patients with Eosinophilia.**The Korean journal of parasitology**, v.46, n.3, p.139-143, 2008.

CLANCY, R. Immunobiotics and the probiotic evolution. **FEMS immunology and medical microbiology**, v.38, p.9-12, 2003.

COATI, N.; SCHNIEDER, T.; EPE, C. Vertical transmission of *Toxocara cati* Schrank 1788 (Anisakidae) in the cat. **Parasitology Research**, v.92, p.142-146, 2004.

COPPOLA, M.M., CONCEIÇÃO, F.R., GIL-TURNES, C. Effect of *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus cereus* var. *toyoi* on the humoral and cellular response of mice to vaccines. **Food and agricultural immunology**, p.1-7, 2005.

CORMACK, D.H. Fundamentos de histologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p.369.

CUI, J.; WANG, Z.Q.; HAN, H.M.; Congenital transmission of *Trichinella spiralis* in experimentally infected mice. **Helmintologia**, v.43, n.1, p.7-10, 2006.

CUNNINGHAM, M.; ZAYAS, L.H. Reducing depression in pregnancy: Designing multimodal interventions. **Social Wrok**, v.47, n.2, p.114-123, 2002.

CZERUCKA, D.; PICHE, T.; RAMPAL, P. Review article: yeast as probiotics - *Saccharomyces boulardii*. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v.26, p.767-778, 2007.

DESPOMMIER, D. Toxocariasis: Clinical Aspects, Epidemiology, Medical Ecology, and Molecular Aspects. **Clinical microbiology reviews**, v.16, n.2, p.265-272, 2003.

DUNSMORE, J.D.; THOMPSON, R.C.A.; BATES, I.A. The accumulation of *Toxocara canis* larvae in the brains of mice. **International Journal for Parasitology**, v.13, n.5, p., 1983.

EPE, C. Intestinal nematodes: Biology and control. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.39, p.1091-1107, 2009.

FAO/WHO, 2001: **Food and Agriculture Organization (FAO) / World Health Organization (WHO)**, Joint FAO/WHO Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria, 2001, disponível em http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf Acesso em, 01 fev 2012.

FELDMAN, G. J.; PARKER, H. W. Visceral larva migrans associated with the hypereosinophilic syndrome and the onset of severe asthma. **Annals of internal medicine**, v.116, n.10, p.838-840, 1992.

FINSTERES, J.; AUER, H. Neuro toxocaroses. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.49, n.5, p.279-287, 2007.

FÓK, E.; KASSAI, T. *Toxocara canis* infection in the paratenic host: A study on the chemosusceptibility of the somatic larvae in mice. **Veterinary Parasitology**, v.74, p.243-259, 1998.

GALDEANO, C.M.; PERDIGÓN, G. The probiotic bacterium *Lactobacillus casei* induces activation of the gut mucosal immune system through innate immunity. **Clinical and vaccine immunology : CVI**, v.13, p.219-298, 2006.

GASANOVA, T.A. Toxocariasis: Spread and impact on reproductive health. **Medicine Parazitology (Moskou)**, v.4, p.11-14, 2003.

GLICKMAN, L. T.; SCHANTZ, P. M. Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocariasis. **Epidemiologic Reviews**, v.3, p.230-250, 1981.

GLICKMAN, L.T.; MAGNAVAL, J.F. Zoonotic roundworm infections. **Infectious Disease Clinics of North America**, v.7, n.3, p.717-32, 1993.

GLICKMAN, L.T.; MAGNAVAL, J.F.; DOMANSKI, L.M.; SHOFR, F.S.; LAURIA, S.S; GOTTSTEIN, B.; BROCHIER, B. Visceral larva migrans in French adults: a new disease syndrome?. **American journal of epidemiology**, v.125, n.6, p.1019-1034, 1987.

GLICKMAN, L.T.; SCHANTZ, P.M.; CYPRESS, R.H. Epidemiological characteristics and clinical findings in patients with serologically proven toxocariasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.73, p.254-258, 1979.

HOFFMEISTER, B.; GLAESER, S.; FLICK, H.; PORNSCHLEGEL, S.; SUTTORP, N.; BERGMANN, F. Cerebral toxocariasis after consumption of raw duck liver. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v.76, n.3, p.600-602, 2007.

HOLLAND, C.V.; O'LORCAIN, P.; TAYLOR, M.R.H.; KELLY, A. Sero-epidemiology of toxocariasis in school children. **Parasitology**, v.110, p.535-545, 1995.

HOTEZ, P.J; WILKINS, P.P. Toxocariasis: America's most common neglected infection of poverty and a helminthiasis of global importance?. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 3, n. 3, p.1-4, 2009

HUMEN, M. A.; DE ANTONI, G. L.; BENYACOU, J.; COSTAS, M. E.; CARDOZO, M. I.; KOZUBSKY, L.; SAUDAN, K-Y. BOENZLI-BRUAND, A.; BLUM, S.; SCHIFFRIN, E. J.; PÉREZ, P.F. *Lactobacillus johnsonii* La1 antagonizes *Giardia intestinalis* *in vivo*. **Infection and immunity**, v.73, n. 2, p.1265-1269, 2005.

JIN, Z.; AKAO, N.; OHTA, N. Prolactin evokes lactational transmission of larvae in mice infected with *Toxocara canis*. **Parasitology International**, 2008.

KOCIECKI, J.; KOCIECKA, W. Ocular toxocarosis as an example of diagnostic and therapeutic difficulties. **WiadParazytol.Poznan-Poland**, 2004.

LEE, K.; MIN, H.; SOH, C. Transplacental migration of *Toxocara canis* larvae in experimental infected mice. **The Journal of Parasitology**, v.62, n.3, 1976.

LEE, K.T.; MIN, H.K. Experimental study on the effect of cortisone in mice infected with *Toxocara canis*: Histopathological findings of granuloma in the liver. **KisaengChunghakChapchi**, v.12, n.2, p.126-134, 1974.

LESCANO, S. Z.; NAKHLE, M. C.; CHIEFFI, P.P. Effect of in vitro cultivation time on the infectivity of *Toxocara canis* eggs. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.40, p.201-202, 1998.

LESCANO, S.Z.; CHIEFFI, P.P.; NETO, V.A.; IKAI, D.K.; RIBEIRO, M.C.S.A. Anti-helmínticos na toxocaríase experimental: Efeito na recuperação de larvas de *Toxocara canis* e na resposta humoral. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial** , v.41, n.1, p.21-4, 2005.

LUOTO, R.; LAITINEN, K.; NERMES, M.; ISOLAURI, E. Impact of maternal probiotic-supplemented dietary counselling on pregnancy outcome and prenatal and postnatal growth: a double-blind, placebo-controlled study. **British Journal of Nutrition**, v.103, n. 12, p.1792-1799, 2010.

LUPPI, P. How immune mechanisms are affected by pregnancy. **Vaccine**, v.21, p.3352-3357, 2003.

MAFFRAND, R.; AVILA-VAZQUEZ, M.; PRINCICH, D.; ALASIA, P. Congenital ocular toxocariasis in a premature neonate. **Anales de pediatria (Barcelona)**, v.64, n.6, p.599-600, 2006.

MAGNAVAL, J.F. Apparent weak efficacy of Ivermectin for treatment of human toxocariasis. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v.42, n.10, p.2770, 1998.

MAGNAVAL, J.F.; DORCHIES, P.; MORASSIN, B. Actualités de la toxocarose humaine. **Pyrexie**, v.4, 2000.

MAGNAVAL, J.F.; MICHAULT, A.; CALON, N.; CHARLET, J.P. Epidemiology of human toxocariasis in la Reunion. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Higiene**, v.88, p.531-533, 1994.

MAGNAVAL, J-F. Comparative efficacy of diethylcarbamazine and mebendazole for the treatment of human toxocariasis. **Parasitology**, v.110, p.529-533, 1995.

MAGNAVAL, J-F.; GLICKMAN, L. T.; DORCHIES, P.; MORASIN, B. Highlights of human toxocariasis. **The Korean journal of parasitology**, v.39, n.1, p.1-11, 2001.

NAGAKURA, K.; TACHIBANA, H.; KANEDA, Y.; KATO, Y. Toxocariasis possibly caused by ingesting raw chicken. **The Journal of Infectious Diseases**, v.160, n.4, p., 1989.

NICHOLS, R.L. The etiology of visceral larva migrans 1. Diagnostic morphology of infective second-stage *Toxocara* larvae . **The Journal of Parasitology**, v.42, n.4, p.349-362, 1956.

OLIVEIRA-SEQUEIRA, T.C.G.; RIBEIRO, C.M.; GOMES, M.I.F.V. Potencial bioterepêutico dos probióticos nas parasitoses intestinais. **Ciência Rural**, v.38, n.9, 2008.

ORÉCIFE, F.; ALVES, R.C.; ORÉCIFE, J.L.; VELOSO, C.E.R. Toxocariasis. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, 2007.

OSHIMA, T. Influence of pregnancy and lactation on migration of the larvae of *Toxocara canis* in mice. **The Journal of Parasitology**, v.47, p.657-60, 1961.

OTEIFA, N.M.; MOUSTAFA, M.A.; EL-GOZAMY, B.R. Congenital toxocariasis: Effect on foetal future immune respnse. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, v.26, n.3, p.629-38, 1996.

OVERGAAUW, P. A. M. Aspects of *Toxocara* Epidemiology: Toxocarosis in Dogs and Cats. **Critical Reviews in Microbiology**, v.23, n.3, p.233-251, 1997.

PAWLOWSKI, Z. Toxocariasis in humans: Clinical expression and treatment dilemma. **Journal of Helminthology**, v.75, p.299-305, 2001.

PEREIRA, A. **Efeitos imunossupressores de dexametasona, ciclosporina e ciclofosfamida sobre linfócitos T e B de camundongos Balb/c**. 2007. 54pf. Dissertação de Mestrado. Programa de Mestrado em Medicina Veterinária, São Paulo, São Paulo, Brasil. Universidade Paulista

PEREIRA, F. A. N. **Avaliação da atividade de telomerase em células-tronco embrionárias indiferenciadas e em células neoplásicas de camundongo**. 2008. 59f. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. Faculdade de Medicina, Univerdiade Federal de Minas Gerais

PICKERD, N.; TUTHILL, D. Resolution of cryptosporidiosis with probiotic treatment. **Postgraduate Medical Journal**, v.80, p.112-113, 2004.

QAMAR, A.; ABOUDOLA, S.; WARNY, M.; MICHETTI, P.; POTHOUKAKIS, C.; LAMONT, J. T.; KELLY, C. P. *Saccharomyces boulardii* stimulates intestinal immunoglobulin A immune response to *Clostridium difficile* toxin A in mice. **Infection and immunity**, v.69, n.4, p.2762-2765, 2001.

REITEROVÁ, K.; TOMASOVICOVÁ, O.; DUBINSKÝ, P. Influence of maternal infection on offspring immune response in murine larval toxocariasis. **Parasite Immunology**, v.25, p.361-368, 2003.

ROBERTS, J.A. The life cycle of *Toxocara vitulorum* in asian bufalo (*Bubalus bubalis*). **International Journal for Parasitology**, v.20, n.7, p.833-840, 1990.

RODRIGUES, A. C. P.; CARA, D. C.; FRETEZ, S. H. G. G.; CUNHA, F. Q.; VIEIRA, E. C.; NICOLI, J. R.; VIEIRA, L. Q. *Saccharomyces boulardii* stimulates slgA production and the phagocytic system of gnotobiotic mice. **Journal of Applied Microbiology**, v.89, p.404-414, 2000.

ROLFE, R. D. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. **The Journal of Nutrition**, v.130, p.396s-402s, 2000.

RUBINSKY-ELEFANT, G.; HIRATA, C.E.; YAMAMOTO, J.H.; FERREIRA, M.U. Human toxocariasis: Diagnosis, worldwide seroprevalences and clinical expression of the systemic and ocular forms. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v.104, n.1, p.3-23, 2010.

SALEM, G.; SCHANTZ, P. Toxocaral visceral larva migrans after ingestion of raw lamb liver. **Clinical Infectious Diseases**, v.15, p.743-744, 1992.

SCAINI, C. J. **Anticorpos monoclonais contra o antígeno de excreção e secreção de larvas de *Toxocara canis* e cinética da produção de anticorpos em camundongos Balb/c infectados experimentalmente**. 2001. 72f. Tese (Doutorado), Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. Centro de Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas.

SCHANTZ, P. M. *Toxocara larva migrans* now. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v.41, n.3 Suppl., p.21-34, 1989.

SCHANTZ, P.M.; GLICKMAN, L.T. Current concepts in parasitology. **Australian Veterinary Practitioner**, v.8, n.3, p.123-127, 1978.

SCHOENARDIE, E.R. **Larva migrans visceral na prole de fêmeas de camundongos Balb/c infectadas experimentalmente com larvas de *Toxocara canis***. 2002. Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas, para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. Universidade Federal de Pelotas.

SINXADI, P.; MAARTENS, G. Pharmacology of anthelmintics: Albendazole, mebendazole and praziquantel. **CME: The S.A. journal of continuing medical education**, v.27, n.6, 2009.

SMITH, H.; HOLLAND, C.; TAYLOR, M.; MAGNAVAL, J-F.; SCHANTZ, P.; MAIZELS, R. How common is human toxocariasis? Towards standardizing our knowledge. **Trends Parasitol**, v.25, n.4, p.182-188, 2009.

STEKETEE, R.W. Pregnancy, nutrition and parasitic diseases. **The Journal of Nutrition**, p.1661S-1667S, 2003.

STOYE, M. Galaktogene und prä-natale infektionen min *Toxocara canis* beim Hund (Beagle). **DeutscheTierarztlicheWochenschrift**, v.83, p.107-108, 1976.

STÜRCHLER, D.; SCHUBARTH, P.; GUALZATA, M.; GOTTSTEIN, B.; OETTLI, A. Thiabendazole vs. albendazole in treatment of toxocariasis: A clinical trial. **Annals of tropical medicine and parasitology**, v.83, p.473-478, 1989.

STÜRCHLER, D.; WEISS, N.; GASSNER, M. Transmission of toxocariasis. **The Journal of Infectious Diseases**, v.162, p.571, 1990.

TAYLOR, M.R.; KEANE, C.T.; O'CONNOR, P.; GIRDWOOD, R.W.A.; SMITH, H. Clinical features of covert toxocariasis. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v.19, p.693-696, 1987.

TAYLOR, M.R.; O'CONNOR, P.; HINSON, A.R.; SMITH, H.V. Toxocara titres in maternal and cord blood. **The Journal Infection**, v.32, n.3, p. 231-233, 1996.

TAYLOR, M.R.H Ocular toxocariasis in: The Enigmatic Parasite. UK: CABI Publishig, 2006. p.127-144.

TELMO, P.L. **Investigação da fase inicial da infecção por *Toxocara canis* e da infecção transmamária em camundongos, modelos experimentais da toxocarose humana**. Dissertação apresentada ao Curso de mestrado em Ciências da Saúde para obtenção do título de mestre. Universidade Federal de Rio Grande, 2006.

WADE, S.E.; GEORGI, J.R. Radiolabeling and autoradiographic tracing of *Toxocara canis* larvae in male mice. **The Journal of parasitology**, v.73, n.1, 1987.

WANG GUANG, X.; LUO ZHONG, J. A novel method for the recovery of *Toxocara canis* in mice. **Journal of Helminthology**, 72p.183-184, 1998.

WEBSTER, G. A. On prenatal infection and the migration of *Toxocara canis* Werner, 1782 in dogs. **Canadian journal of zoology**, v.36, p.435-440, 1958.

ZANELLO, G.; MEURENS, F.; MUSTAPHA, B.; SALMON, H. *Saccharomyces boulardii* effects on gastrointestinal diseases. **Current issues in molecular biology**, v.11, p.47-58, 2009.

Apêndices

G1 PROBIÓTICO (<i>Saccharomyces boulardii</i>)													G2 CONTROLE												
ID. fêmea	Lactente	ENC	GO	PL	COR	BÇ	R	F	CARC	Total	ID. fêmea	Lactente	ENC	GO	PL	COR	BÇ	R	F	CARC	Total				
C	F7	0	0	0	0	0	0	1	0	1	C-c	F8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
	F8	1	0	0	0	0	0	1	0	2		F9	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1			
	F9	0	0	0	0	0	0	1	0	1		F10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F	F1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	E-c	F1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1			
	F2	0	0	0	0	0	0	0	0	0		F2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1			
	F3	0	0	0	0	0	0	0	1	1		F3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1			
	F4	0	0	0	0	0	0	0	0	0		F4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1			
	F5	0	0	0	0	0	0	0	0	0		F5	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1			
E	F1	1	0	0	0	0	0	0	0	1		F6	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1			
	F2	0	0	1	0	0	0	0	2	3		F7	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3			
	F3	4	0	0	0	0	0	0	0	4		F8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1			
	F4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	F-c	F1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
G	F5	0	0	0	0	0	0	0	0	0		F2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2			
	F6	0	0	0	0	0	0	0	0	0		F3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1			
	F7	0	0	0	0	0	0	0	0	0		F4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
	F8	0	0	0	0	0	0	0	0	0		F5	1	0	0	2	0	0	0	0	0	3			
	F1	3	0	0	0	0	0	0	0	3		F6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
	F2	1	0	0	0	0	0	0	0	1		F7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
	F3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	G-c	F1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
	F4	0	0	0	0	0	0	0	0	0		F2	3	0	0	0	0	1	0	1	5				
F5	0	0	0	0	0	0	0	0	0		F3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
F6	0	0	0	0	0	0	0	0	0		F4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
F7	1	0	0	0	0	0	0	0	1		F5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
F8	0	0	0	0	0	0	0	0	0		F6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
F9	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1		F7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			

Apêndice A - Número de larvas de *Toxocara canis* recuperado nos órgãos e carcaça de lactentes de fêmeas inoculadas no último terço da gestação (**pag. 3 de 3**).

G1 PROBIÓTICO(<i>Saccharomyces boulardii</i>)													G2CONTROLE												
ID.fêmea		Lactente	ENC	GO	PL	COR	BÇ	R	F	CARC	Total	ID.fêmea		Lactente	ENC	GO	PL	COR	BÇ	R	F	CARC	Total		
G	F10		0	0	0	0	0	0	0	0	0	G-c	F8		0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	F11		0	0	0	0	0	0	0	0	0		F9		1	0	0	0	0	0	0	0	1		
	F1		0	0	0	0	0	0	0	0	0		F10		0	0	0	0	0	0	0	0	0		
D	F2		0	0	0	0	0	0	0	0	0	D-c	F1		0	0	0	0	0	0	1	0	1		
	F3		0	0	0	0	0	0	0	0	0		F2		0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	F4		0	0	0	0	0	0	0	0	0		F3		0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	F5		0	0	0	0	0	0	0	0	0		F4		0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	F6		0	0	0	0	0	0	0	0	0		F5		0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	F7		0	0	0	0	0	0	0	0	0		F6		0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	F8		0	0	0	0	0	0	0	0	0		F7		1	0	0	0	0	0	0	0	1		
	F9		0	0	0	0	0	0	0	0	0		F8		0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	F1		1	0	0	0	0	0	0	0	1		F9		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	F2		0	0	0	0	0	0	0	0	0		H-c	F1		1	0	0	0	0	0	0	0	1	
F3		0	0	0	0	0	0	0	0	0	F2			0	0	0	0	0	0	0	0	0			
TOTAL		26	1	3	1	0	0	4	9	44	F3			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
TOTAL													TOTAL												

Apêndice B - Resultados obtidos na recuperação de larvas, por órgão de cada uma das fêmeas progenitoras inoculadas no terço final da gestação.

G1 PROBIÓTICO (Saccharomyces Boulardii)												G2 CONTROLE											
ID.PAR	ENC	GO	PL	COR	BÇ	R	F	CARC	GL.MAM	Total		ID.PAR	ENC	GO	PL	COR	BÇ	R	F	CARC	GL.MAM	Total	
A	10	0	2	1	0	0	1	0	0	14	A-c	21	0	0	0	0	0	0	1	2	1	25	
B	19	0	0	0	0	1	2	4	2	28	B-c	13	0	0	0	0	1	0	0	0	0	14	
C	4	0	0	0	0	0	0	0	1	5	C-c	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	
D	1	0	4	0	0	0	0	0	0	5	D-c	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
E	0	0	0	1	0	0	1	0	1	3	E-c	4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	5	
F	4	0	0	0	0	0	0	0	0	4	F-c	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
G	6	0	0	0	0	0	0	0	1	7	G-c	6	0	0	0	0	0	0	0	0	1	7	
H	6	0	2	0	0	0	1	0	0	9	H-c	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	
Totais	50	0	8	2	0	1	5	4	5	75	Totais	50	0	0	0	0	0	1	2	2	3	58	

ID. PAR Identificação das fêmeas progenitoras.

Apêndice C - Resultados agrupados para cada fêmea progenitora e sua respectiva prole.

	ID.	n° F.	F.I.	%*	T.L	L.T.	%**	DISTRIBUIÇÃO LARVAS/ÓRGÃO #							
								GO	PL	COR	BÇ	ENC	R	F	CARC
G1 (<i>Saccharomyces boulardii</i>)	A	8	7	87,5	24	10	41,7	1	0	0	0	6	0	1	2
	B	9	5	55,6	34	6	17,6	0	0	0	0	4	0	0	2
	C	9	8	88,9	17	12	70,6	0	2	1	0	4	0	3	2
	D	9	0	0,0	5	0	0,0	0	0	0	0	0	0	0	0
	E	8	3	37,5	11	8	72,7	0	1	0	0	5	0	0	2
	F	5	1	20,0	5	1	20,0	0	0	0	0	0	0	0	1
	G	11	4	36,4	13	6	46,2	0	0	0	0	6	0	0	0
	H	3	1	33,3	10	1	10,0	0	0	0	0	1	0	0	0
	Totais G1	62	29	-	119	44	-	1	3	1	0	26	0	4	9
	médias G1	7,8	3,6	44,9	14,9	5,5	34,8	0,1	0,4	0,1	0,0	3,3	0,0	0,5	1,1
G2 (Controle)	A-c	9	6	66,7	33	8	24,2	0	0	0	0	5	0	1	2
	B-c	7	7	100,0	38	24	63,2	0	1	0	0	17	0	0	6
	C-c	10	7	70,0	17	16	94,1	2	0	0	0	13	0	1	0
	D-c	9	2	22,2	2	2	100,0	0	0	0	0	1	0	1	0
	E-c	8	8	100,0	15	10	66,7	0	0	0	0	5	0	1	4
	F-c	7	3	42,9	8	6	75,0	0	0	2	0	4	0	0	0
	G-c	10	2	20,0	14	7	50,0	0	0	0	0	4	1	0	2
	H-c	5	2	40,0	7	3	42,9	0	0	0	0	3	0	0	0
	Totais G2	65	37	-	134	76	-	2	1	2	0	52	1	4	14
	médias G2	8,1	4,6	57,7	16,8	9,5	64,5	0,3	0,1	0,3	0,0	6,5	0,1	0,5	1,8

ID. Identificação da fêmea progenitora (ou lactante).

n°F. Número de filhotes (ou lactentes).

F.I. Filhotes infectados (lactentes positivos).

%* Percentual de filhotes infectados (ou percentual de lactentes positivos).

T.L. Total de larvas recuperadas na progenitora e respectiva prole.

L.T Larvas transmitidas.

%** Percentual de larvas transmitidas.

Larvas por órgão de filhotes (lactentes). Resultados individuais dos lactentes estão no **apêndice A** e os resultados individuais das progenitoras estão no **apêndice B**.